

Aus der I. Inneren Abteilung des
Städt. Krankenhauses Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)
und
aus dem Institut für Haematologie der GSF,
Assoziation mit EURATOM München
(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

DIE EINWIRKUNG VON 400 RAD SCHNELLEN ELEKTRONEN
(BETATRON, 35 MEV)
AUF MENSCHLICHES KNOCHENMARK IN VITRO

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jürgen Ciarkowski
aus Berlin

1970
1971

Aus der I. Inneren Abteilung d. Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM München
(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

Die Einwirkung von 400 rad schnellen Elektronen (Betatron, 35 MeV)
auf menschliches Knochenmark in vitro.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jürgen Ciarkowski
aus Berlin

1970

Referent: Prof. Dr. med. Irene Boll

Korreferent: Prof. Dr. med. Karl zum Winkel



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 15.2.1971

INHALT

	Seite
Literaturüberblick	1
Fragestellung	5
Methode	6
Ergebnisse	11
Zusammenfassung der Ergebnisse	34
Diskussion	35
Zusammenfassung	37



Digitized by the Internet Archive
in 2026

LITERATURÜBERBLICK

Die Grundlagenforschung über die Einwirkung von ionisierenden Strahlen auf die Zelle bzw. die damit verbundenen Veränderungen am Zellkern gehen auf das Jahr 1903 zurück.

PERTHES (22) untersuchte schon damals bestrahlte Ascaris-Eier und registrierte dabei in frühen Entwicklungsstadien absterbende Larvenformen und mikroskopisch abnorme Kernteilungsfiguren der Zellkerne. HERTWIG (15) fand 1911 einen vermehrten Chromosomenzerfall von Froscheiern und Spermatozoen als Folge von Röntgenbestrahlung. 1934 beschrieb POLITZER (23) in der sehr ausführlichen Monographie "Pathologie der Mitose" eine Abnahme der Mitosetätigkeit nach Bestrahlung. Er kam weiter zu dem Ergebnis, daß alle von ihm untersuchten Gewebe die gleiche Reaktion auf die Mitosetätigkeit nach Röntgenbestrahlung zeigten. Zum ersten Mal wurde auch von ihm die Forderung erhoben, als Maßstab für die Einwirkung von ionisierenden Strahlen nicht nur die Mitosen zu registrieren, sondern auch die Anzahl der Ruhezellen, um somit durch das Verhältnis zueinander eine exakte Aussage machen zu können. Eine Arbeit von JUUL und KEMP (17), die zu den gleichen Ergebnissen wie Politzer kommt, zeigt erstmals die direkt proportionale Dosisabhängigkeit zum Abfall der Mitosen auf.

Zu der speziellen Frage der Veränderungen am Knochenmark durch ionisierende Strahlen existieren sehr viele Veröffentlichungen verschiedener Autoren von in-vivo-Untersuchungen an Versuchstieren, z.T. nach Ganzkörperbestrahlung und z.T. nach ausgeblendeter Bestrahlung knochenmarktragender Skelettanteile. Außer diesen verschiedenen Versuchsanordnungen wurden noch sehr differierende Bestrahlungsdosierungen mit einzeitiger oder fraktionierter Bestrahlungsapplikation angewandt. Dadurch sind die Möglichkeiten eines direkten Vergleiches sehr eingeschränkt. Erwähnt sei hier die umfassende Arbeit von BAUER (1940) (3) über die Einwirkung von unterschiedlich verabfolgten Röntgenstrahlen auf das Knochenmark. Bestrahlt wurden die Femuren von Kaninchen mit Dosen zwischen 50 und 9000 R. Dabei zeigte sich die Erythropoese

bei kleineren Dosen strahlensensibler als die Granulopoese. Der Schädigung folgte aber sehr rasch eine Erholungsphase. Die Granulopoese zeigte erst bei solchen Dosen Schädigungen, bei denen die Erythropoese schon erhebliche Veränderungen aufwies. Die Regeneration der weißen Reihe war gegenüber der roten Reihe deutlich verzögert. Dieses wird auch durch SCHERER und STEPHAN ⁽²⁶⁾ in "Strahlenpathologie der Zelle" bestätigt. ZAK ⁽²⁷⁾ untersuchte 1964 die Mitoseaktivität nach Einzeit-Ganzkörperbestrahlung von Mäusen mit steigenden Dosen bis 1000 R. Bei 100 R stellte er keine signifikanten Veränderungen fest. Bei 600 R waren die Mitosen um 20 % vermindert, die späteren Mitosephasen überwogen. Bei 1000 R registrierte er eine irreparable Markschädigung, Mitosen konnten kaum noch festgestellt werden.

Weit weniger Veröffentlichungen sind über in-vivo-Beobachtungen am menschlichen Knochenmark bekannt; FLIEDNER und STODTMEISTER ⁽¹¹⁾ berichten in ihrem Lehrbuch "Experimentelle und klinische Strahlenhämatologie" über 46 Patienten nach Reaktorunfällen in den USA und anderen Ländern.

Da die Allgemeinwirkung der Bestrahlung und laufende Knochenmarkuntersuchungen zu belastend sind, bietet sich gerade für die Untersuchung der Strahleneinwirkung auf das menschliche Knochenmark die in-vitro-Untersuchung an. GREGORI ⁽¹³⁾ veröffentlichte schon 1939 seine Ergebnisse von in-vitro-Versuchen, wonach die Kultur-Zellen erheblich strahlenresistenter seien, als Knochenmarkzellen in-vivo. Die Auffassung konnte von anderen Autoren nicht bestätigt werden. RACHMILEWITZ, ROSIN, GOLDBERGER und DOJANSKI ⁽²⁵⁾ wiesen 1945 an bestrahlten Kaninchen-Knochenmarkkulturen, ebenso wie aus in-vivo-Untersuchungen bekannt war, eine Mitoseverminderung nach. OSGOOD ⁽²¹⁾ zeigte an menschlichen Knochenmarkkulturen bei einer Dosis von 50 R, daß die Lymphocyten strahlensensibler als die Promyelocyten waren. Das gleiche traf auch für eine Dosis von 400 R zu. ASTALDI, MAURI und DI GUGLIELMO ⁽²⁾ konnten 1950 nachweisen, daß eine Dosis von 50 R an der Colchicin-Knochenmarkkultur schon eine deutliche Verminderung des Mitoseindex bewirkte, während an der normalen Knochenmarkkultur keine Veränderung des Mitoseindex nachweisbar war.

ALBRECHT und BOLL ⁽¹⁾ empfahlen 1950 zur exakteren Überprüfung von Zellveränderungen am Knochenmark durch cytostatische Substanzen die Knochenmarkkurzkultur als Koagulumkultur, was ebenfalls für den Zusatz von Radioisotopen oder die Applikation von ionisierenden Strahlen gilt. Hierbei können zum Vergleich unbehandelte Kontrollkulturen herangezogen werden, um somit feststehende Ausgangsbedingungen zu schaffen. Gleichzeitig können bei dieser Methode humorale und nervale Beeinflussungen, die bei in-vivo-Versuchen vorhanden sind, ausgeschaltet werden. Als Nachteil ist lediglich die auf 3 Tage begrenzte Beobachtungsmöglichkeit an der Knochenmarkkultur zu erwähnen, da dann eine mikroskopische Auswertung wegen fortschreitender Entdifferenzierung nicht mehr möglich ist. 1956 veröffentlichten BOLL, KOPPE, SCHAAF und TRAUTMANN ⁽⁹⁾ eine Arbeit über "Quantitative und qualitative Veränderungen an röntgenbestrahlten Knochenmarkkulturen", in der sie feststellten, daß kleine einmalige Dosen von Röntgenstrahlen von 100 R keine Veränderungen des Mitoseindex herbeiführten. Bei größeren Dosen von 200 bis 1000 R ergab sich eine direkt proportionale Verminderung der Mitoseindices sowohl in der roten, wie auch in der weißen Reihe. Die Mitosehemmung durch Massivbestrahlung konnte durch Vorbestrahlung mit kleinen Dosen von 3×10 R abgeschwächt werden. Zwischen 500 und 1000 R traten besonders gehäuft Kernanomalien, Vakuolenbildungen in Kern und Plasma und Fehlfärbungen auf. Besonders in der Erythropoese waren Karyorhexis und Kernpyknose und eine leichte Vermehrung von zweikernigen Zellen, seltener von mehrkernigen, zu verzeichnen. Zur Verteilung der einzelnen Mitosephasen stellten sie folgendes fest: Bei den unbestrahlten Kontrollkulturen lagen hauptsächlich die frühen Phasen vor, bei den bestrahlten Kulturen überwogen die späten Phasen. Bei einer Dosis von 1000 R ist nach KOPPE ⁽¹⁸⁾ schon eine erhebliche allgemeine Zellschädigung zu bemerken.

Als weitere Methode zur Feststellung von Veränderungen an Knochenmarkzellen nach Applikation von ionisierenden Strahlen ist die Messung des verminderten Einbaues von Tritium-Thymidin oder Radiophosphor in den Zellkern zu erwähnen.

Nach BOLL ⁽⁶⁾ stellt jedoch die Verminderung des Mitoseindex nach Bestrahlung ein Parameter dar, der wesentlich einfacher zu erarbeiten ist als die autoradiografische Darstellung des verminderten Tritium- oder Radiophosphat-Einbaues in den Kern.

Mit dem zunehmenden technischen Fortschritt auf medizinischem Gebiet, hat sich in den letzten Jahren in der Strahlenheilkunde die Hochvolttherapie in Form der schnellen Elektronen oder ultraharter Bremsstrahlung durchgesetzt. Für die folgenden Untersuchungen wurde die Bestrahlung mit schnellen Elektronen ausgewählt, weil über den biologischen Unterschied dieser Strahlenart zu den Röntgenstrahlen der konventionellen Röntgentherapie bzw. der ultraharten Bremsstrahlung noch wenig bekannt ist.

In einer experimentellen Arbeit zur Bestimmung der RBW (relative biologische Wirksamkeit) von schnellen Elektronen weist GÄRTNER ⁽¹²⁾ (1958) darauf hin, daß an der Hühnerherzfibroblastenkultur die Mitoseverminderung bei 250 R schnellen Elektronen (15 MeV) nur ca. die Hälfte beträgt, wie bei gleicher Dosierung mit konventioneller Röntgenbestrahlung (180 KV) MARKUS ⁽²⁰⁾ zeigte in Übereinstimmung mit Gärtner eine deutlich geringere Mitosehemmung durch Elektronen gegenüber konventioneller Bestrahlung bei gleichzeitig stärker hervortretender Nekrobiose der Zellen von *Allium cepa* (Wurzelspitzen) und He-La-Zellkulturen. MACHEMER, SCHUSTER, SUCHTING und BÜTTNER ⁽¹⁹⁾ bestimmten 1963 den Mitose- und Markierungsindex mit Tritium-Thymidin am Rattencorneaepithel nach Elektronenbestrahlung. Der Markierungsindex blieb dabei bis zur 6. Stunde nach Bestrahlung unverändert, sank nach der 12. Stunde auf 50 % ab und stieg nach dem 3. bis 7. Tag bis über den Ausgangswert an (Zeichen der Polyploidierung); er blieb bis zum 28. Tag erhöht. Der Mitoseindex wurde relativ schnell und dosisabhängig gesenkt und normalisierte sich wieder von der 12. Stunde bis zum 14. Tag. Vergleichende Untersuchungen an menschlichen Gewebekulturen liegen unseres Erachtens noch nicht vor.

Die Dosis für die Bestrahlung unserer Knochenmarkkulturen wurde aus den Erfahrungen der vorher zitierten Arbeiten, haupt-

sächlich der von BOLL, KOPPE, SCHARF und KRAUHMANN (9) auf 400 rad festgesetzt, da diese Dosis eine deutliche Zellveränderung und Mitoseverminderung bedingt, eine höhere Dosis jedoch durch allgemeine cytotoxische Veränderungen eine exakte Auswertung gestört hätte.

FRAGESTELLUNG

Diese Arbeit befaßt sich mit der Aufzeichnung von Veränderungen an der Knochenmarkkultur, sowohl in der weißen als auch in der roten Reihe nach Bestrahlung mit 400 rad schnellen Elektronen im Vergleich mit unbestrahlten Kulturen. Dabei sollen folgende Fragen geklärt werden:

1. In welchem Umfang findet eine Verminderung der Mitose-tätigkeit in der Erythropoese und der Granulopoese statt.
2. Wie hoch ist das bisher nur qualitativ erwähnte Vorkommen von zweikernigen Zellen nach Bestrahlung. (Fliedner).
3. Wie ist die Reifung in vitro nach Differentialzählung zu beurteilen.
4. Wie ist die Häufigkeit einzelner Mitosephasen, d.h. ergibt sich eine Verzögerung bzw. Beschleunigung der Mitosedauer (t_m) nach der Bestrahlung. Dies würde bei der Berechnung der Mitosehäufigkeit (m) auf den Mitoseindex (MI) zu berücksichtigen sein. ($m = \frac{MI}{t_m}$).
5. Wie ist das relative Verhalten von Granulo- zu Erythropoese, d.h. wird eine der beiden Reihen stärker beeinflusst als die andere. (Boll, Fuchs).

Zusätzlich soll eine Beschreibung der morphologischen Veränderungen der einzelnen Knochenmarkzellen nach Bestrahlung erfolgen.

Abschließend soll ein Vergleich zu entsprechenden Untersuchungen mit konventioneller Röntgenbestrahlung (Boll et al.) und mit ultraharter Bremsstrahlung gezogen werden, in einer Gegenüberstellung mit den Ergebnissen von HEINZE (14), der menschliche Knochenmarkkulturen nach Bestrahlung mit 400 rad Photonen (33 MeV) untersuchte.

Deshalb wurden von den bestrahlten Kulturen und den unbestrahlten Kontrollkulturen

1. die Mitoseindices nach 24, 48 und 72 Std. ermittelt. Der Mitoseindex ist die Anzahl aller Mitosen, bezogen auf die Gesamtzahl der teilungsfähigen Zellen. (Angabe erfolgt in %). Als teilungsfähig werden angesehen in der Erythropoese: Proerythroblast und alle Erythroblasten mit Ausnahme der Reifen. In der Granulopoese: Myeloblast, Promyelocyt, Myelocyt und Jugendlicher.

2. die Ermittlung der Indices der zweikernigen Zellen vorgenommen. Der Index stellt die Anzahl von zweikernigen Zellen bezogen auf alle teilungs- und nicht teilungsfähigen Zellen getrennt nach weißer und roter Reihe dar.
3. Reifungskurven der Kulturen bis 72 Std. angefertigt. (Beim Ausstreichen der Koagulumkulturen und der anschließenden Differenzierung können nur relative Zellverschiebungen festgestellt werden). Rote und weiße Reihe wurden getrennt graphisch dargestellt.
4. caryologische Kurven der Mitosephasen aufgestellt (die prozentuale Verteilung der einzelnen Mitosephasen wurde ebenfalls graphisch dargestellt).
5. die Anfertigung einer Tabelle der G/E-Indices, die das relative Verhältnis von allen weißen zu roten Zellen wiedergeben, vorgenommen.

METHODE

Die Gewinnung des Knochenmarkes erfolgte durch routinemäßige Sternalpunktion verschiedener Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen. Die Knochenmarkkultivierung wurde nach der Carrel-Deckglaskulturmethode, modifiziert nach BOLL (5) (7), durchgeführt. Das zur Koagulation gebrachte Medium bestand aus

50 % Nativplasma des betreffenden Patienten

10 % Corhormon, 5-fach verstärkt, (Fa. Chemiewerke Homburg)

40 % Hanks Lösung.

Nach Aufsetzen eines Knochenmarkbröckels auf das Koagulum im Hohlschliffobjektträger und Bedeckung mit 1 Tropfen Eigenserum wurde ein Hartparaffinverschluß und Inkubierung bei 37° im Brutschrank vorgenommen.

Ein anderer Teil des gewonnenen Knochenmarks wurde in Hanks Lösung und Heparin aufgefangen, in einen speziellen Plexiglas-hohlschliffobjektträger eingebracht und möglichst schnell nach Punktion der Bestrahlung zugeführt.

Die Bestrahlung erfolgte mit 400 rad schnellen Elektronen (35 MeV) bei einer Dosisleistung von ca. 350 rad/min. in der Art, daß das zu bestrahlende Präparat in einen rotierenden

Plexiglasbehälter eingelegt und mit einer Plexiglasschicht von 3,1 cm Stärke bedeckt wurde. Die Rotation bewirkt eine Homogenisierung des Bestrahlungsfeldes; die bedeckende Plexiglasschicht ist bei dem Aufbaueffekt der Elektronen notwendig, um 100 % der applizierten Dosis auf das Präparat einwirken lassen zu können. Die Auszeichnung einer Isodosenkurve und eigene dosimetrische Messungen mit einer Schlauchkammer bestätigten die theoretischen Grundlagen.

Es wurden Ausstriche sofort nach Sternalpunktion und von den bestrahlten und Kontrollkulturen nach 24, 48 und 72 Std. angefertigt und nach Pappenheim gefärbt.

Es folgte die meanderförmige Abtastung und Zählung der Zellen, insbesondere der Erythro- und Granulocytopoese, in den aufgelockerten Randpartien der Präparate. Aus jedem Präparat wurden laut Empfehlung von BOLL und FUCHS ⁽⁸⁾ 2000 Zellen gezählt, um so eine gleichmäßige Zellverteilung zu garantieren. Insgesamt wurden 70 000 Zellen gezählt, davon ca. 64 000 Zellen der weißen und roten Reihe und ca. 6000 Zellen, bestehend aus Megakaryocyten, Plasmazellen, Reticulumzellen und Lymphocyten.

Die rote Reihe wurde differenziert in:

1. Proerythroblast
2. basophiler Erythroblast
3. polychromatischer Erythroblast
4. oxyphiler Erythroblast
5. reifer Erythroblast.

Die weiße Reihe wurde differenziert in:

1. Myeloblast
2. Promyelocyt
3. neutrophiler Myelocyt
4. eosinophiler Myelocyt
5. basophiler Myelocyt
6. Monoblast
7. Jugendlicher (neutr. Granulocyt)

8. stabkerniger Granulocyt
9. neutrophiler segmentkerniger Granulocyt
10. eosinophiler segmentkerniger Granulocyt
11. basophiler segmentkerniger Granulocyt
12. Monocyt.

Für die Differenzierung der einzelnen Zellen wurden von uns folgende mikroskopische Kriterien und Zelleigenschaften angewandt.

Proerythroblast: (15-22 $\mu\emptyset$)

Stellt die jüngste Zelle der roten Reihe dar, mit einem großen, runden Kern, mit dichtem feinkörnigem Chromatingerüst und gleichmäßigem basophilem Plasma mit perinucleären Aufhellungen.

Basophiler Erythroblast: (8-15 $\mu\emptyset$)

Hier findet eine deutliche Verschiebung der Kern-Plasma-Relation zugunsten des Plasma statt, das stark basophil und etwas ungleichmäßiger als beim Proerythroblasten den grobscholligen Kern umgibt.

Polychromatischer Erythroblast: (8-12 $\mu\emptyset$)

Der kern ist geschrumpft und zeigt Radspeichenstruktur. Das Cytoplasma ist mit Hämoglobin beladen und zeigt je nach Reife eine grau-violette bis grau-rosa Farbe.

Oxyphiler Erythroblast: (7-10 $\mu\emptyset$)

Das Plasma ist nur noch mit Hämoglobin beladen, daher Farbe wie Erythrocyt, das Kernchromatin ist grobschollig und radiär angeordnet.

Reifer Erythroblast: (7-10 $\mu\emptyset$)

Durch Verklumpung entstehen pyknotische und exzentrische Kerne.

Myeloblast: (ca. 15 μ Ø)

Es besteht eine gewisse Ähnlichkeit zum Proerythroblasten, nur daß die Kern-Plasma-Relation zugunsten des Kernes verschoben ist, ein wesentlich schwächer basophiler Plasmasaum umgibt den sehr dichten, etwas verwaschenen Kern, der ein sehr feinmaschiges Chromatingerüst aufweist.

Promyelocyt: (16-27 μ Ø)

Es handelt sich um die größte Zelle der weißen Reihe, die typische azurophile, dunkelrote Granulierung, die unregelmäßig über die ganze Zelle verteilt ist, aufweist. Gegenüber dem Myeloblasten ist das Cytoplasma weniger basophil und etwas breiter. Der Kern ist oval und oft eingebuchtet.

Neutrophiler Myelocyt: (14-18 μ Ø)

Das Cytoplasma ist mehr graublau und weist feine neutrophile Granula auf. Der Kern hat eine nierenförmige Einbuchtung, weist dichtes Chromatingerüst auf und hat gegenüber den unreiferen Vorstufen, bei denen mehr oder weniger häufig Nucleoli vorliegen, keine solchen mehr.

Eosinophiler Myelocyt: (14-18 μ Ø)

Wie neutrophiler Myelocyt, nur wird hier Kern und Plasma von plumpen eosinophilen Granula überdeckt.

Basophiler Myelocyt: (14-18 μ Ø)

Wie eosinophiler Myelocyt, nur liegen hier basophile Granula vor.

Monoblast: (ca. 25 μ Ø)

Es handelt sich um eine relativ große Zelle, wahrscheinlich myeloischer Herkunft, die gewisse Ähnlichkeit zum Promyelocyten aufweist. Der Kern hat jedoch eine einseitige, oft unregelmäßige Einbuchtung, grobfädiges, lockeres Chromatin und vereinzelte Nucleolen. Das Plasma ist hell-basophil und hat sehr zarte Azurgranulationen.

Jugendlicher: (14-18 μ Ø)

Der Kern erscheint stärker eingebuchtet, das Plasma und die Granulationen sind ähnlich wie bei den Myelocyten.

Stabkerniger Granulocyt: (14-18 μ Ø)

Charakteristisch durch hufeisenförmigen Kern mit gröberer, dunklerer Chromatinstruktur. Bereits vorhandene Einbuchtungen dürfen nicht mehr als $\frac{1}{3}$ der Kernbreite betragen.

Neutrophiler segmentkerniger Granulocyt: (10-15 μ Ø)

Wie stabkerniger Granulocyt, die Einschnürungen am Kern gehen jedoch soweit, daß 3 bis 4 Segmente entstehen, die nur noch durch fadenförmige Brücken verbunden sind.

Eosinophiler segmentkerniger Granulocyt: (10-15 μ Ø)

Hier sind auffällige eosinophile Granula über kern und Plasma verteilt. Der Kern besteht jedoch meist nur aus 2 runden bis ovalen Segmenten, die durch einen kurzen Faden verbunden sind.

Basophiler segmentkerniger Granulocyt: (10-15 μ Ø)

Wie eosinophiler segmentkerniger Granulocyt, nur liegt hier basophile Granulierung vor.

Monocyt: (ca. 20 μ Ø)

Große Zelle, die im peripheren Blut die größte reife Blutzelle darstellt. Der große Kern ist gelappt und vielgestaltig, häufig wurst- bis bohnenförmig, mit lockerem Chromatingerüst, insgesamt transparent erscheinend. Das Plasma ist hell-basophil bis schiefergrau.

Die Abgrenzung der verschiedenen Mitosephasen gegeneinander wurde nach BOLL ⁽⁵⁾ wie folgt festgelegt:

1. Prophase: Auflösung der Kernmembran, Lockerung der Kernsubstanz. Die Nucleolen verschwinden, die Chromosomen sind in einem festen Spirem geordnet.
2. Frühe Metaphase: Bildung eines lockeren Spirems, Verteilung der Chromosomen über die ganze Zelle.
3. Späte Metaphase: Es findet eine Chromosomenverdoppelung statt, Anordnung der Chromosomen in der Äquatorialebene, Bildung des Monasters.
4. Anaphase: Diasterbildung, Auseinanderweichen der Chromosomen zu den Spindelpolen hin.

5. Telophase: Einschnürung des Cytoplasmas, die Chromosomen bilden jetzt ein lockeres Dispirem.
6. Rekonstruktionsphase: Bildung eines festen Dispirems, Kernausbildung und Membranbildung in den durch Cytoplasmateilung entstandenen 2 Zellen.

ERGEBNISSE

Es wurden 5 Patienten untersucht. Eine Auswahl wurde nur in sofern vorgenommen, als genügend Material zur Verfügung stehen mußte. Nach Sternalpunktion und Anfertigung der Ausstrichpräparate in der schon ausführlich geschilderten Weise wurden pro Präparat 2000 Zellen, pro Patient insgesamt 14 000 Zellen ausgezählt. Anschließend wurden der Mitoseindex, der zweikernigen-Index und der G/E Index ermittelt, sowie die karyologischen- und die Reifungskurven angefertigt.

FALL 1: Patient M. B., 69 Jahre, weiblich.

Diagnose: Polyarthrititis rheumatica

Knochenmarkdiagnose: 24.9.69, angeregte, linksverschobene Erythropoese, Vermehrung der Reticulumzellen, Plasmazellen und Lymphocyten.

Therapie bis zur Sternalpunktion:

Plastulen	R	2 x 1 Kaps.
Valium	R	10 mg Tabl. b.Bed.

Peripheres Blutbild vom 17.9.69:

Erythrocyten	4,12 Mill./mm ³
Hämoglobin	11,3 g %
HbE	27,5 %
Leukocyten	8400/mm ³
Basoph.	3 %
Eosinoph.	3 %
Stabkern.	13 %
Segmentk.	55 %
Lymphoc.	20 %
Monoc.	5 %
AMZ	1 %

BSG: 89/108, Elektrophorese: Albuminverminderung

FALL 2: Patient A. H., 78 Jahre, weiblich.

Diagnose: Burkitt-Tumor DD. Lymphosarkom

Knochenmarkdiagnose: 10.7.68, Erythropoese mäßig vermehrt, Vorkommen von vielen, großen Blasten und Monocyten. Kein Nachweis von Burkitt-Zellen.

Therapie bis zur Sternalpunktion:

Bestrahlung mit schnellen Elektronen von Halslymphomen über ein Halsfeld, 3 x 400 rad/Woche (20 MeV)

Peripheres Blutbild vom 12.7.68:

Erythrocyten	4,53	Mill./mm ³
Hämoglobin	11,6	g %
HbE	26,0	pg
Anisocytose +, Poikilocytose +		
Leukocyten	6900	/mm ³
Eosinoph.	1	%
Stabkern.	9	%
Segmentk.	42	%
Lymphoc.	29	%
Monoc.	19	%
Thrombocyten	132 500	mm ³

FALL 3: Patient W. R., 45 Jahre, weiblich.

Diagnose: Pyelonephritische Schrumpfnieren, Niereninsuffizienz

Knochenmarkdiagnose: 10.1.68, linksverschobene angeregte Erythropoese, wie bei Eisenmangel.

Therapie bis zur Sternalpunktion:

Terramycin	R	1,0 i.m.
Euphyllin	R	0,24 i.v.
Dominal forte	R	40 mg 1 Drg.
Nitrokapsel	R	1
Lanicor	R	0,25 mg 2 x 1 Tabl.
Osmofundin	R	500 ml Infusion
Periston-N	R	200 ml Infusion

Peripheres Blutbild vom 3.1.68:

Erythrocyten	2,72	Mill./mm ³
Hämoglobin	9,2	g %
HbE	34,0	pg
Leukocyten	8000	/mm ³
Stabkern.	7	%
Segmentk.	80	%
Lymphoc.	6	%
Monoc.	4	%
AMZ	3	%

BSG: 44/74, Elektrophorese: Albuminverminderung

FALL 4: Patient I. S., 44 Jahre, weiblich

Diagnose: Morbus Recklinghausen, idiopathische
Thrombopenie, Zustand n. Splenektomie

Knochenmarkdiagnose: 4.2.69, Megakaryocyten vermehrt,
viele nacktkernige, z.T. auch viele ausgereifte Formen.
Angeregte Erythropoese, wie bei Blutungsanämie.

Therapie bis zur Sternalpunktion:

keine

Peripheres Blutbild vom 11.3.69:

Erythrocyten	4,5	Mill./mm ³
Hämoglobin	13,9	g %
HbE	30,6	pg
Jolly Körper	++	tox. Granulat. ++
Leukocyten	5900	/mm ³
Eosinoph.	2	%
Stabkern.	4	%
Segmentk.	56	%
Lymphoc.	28	%
Monoc.	10	%

Thrombocyten 17 000/mm³

BSG: 7/13

FALL 5: Patient G. T., 70 Jahre, männlich

Diagnose: Normochrome Anämie, unklarer Gewichts-
verlust, Tumorverdacht

Knochenmarkdiagnose: 24.9.69, angeregte linksver-
schobene Erythropoese, wie bei Eisenmangel.

Therapie bis zur Sternalpunktion:

Dominal forte	R	40 mg	1 Drg.
Valium	R	10 mg	1 Tabl.

Peripheres Blutbild vom 16.9.69:

Erythrocyten	3,48	Mill./mm ³
Hämoglobin	11,5	g %
HbE	33,0	pg
Leukocyten	3000	/mm ³
Eosinoph.	1	%
Stabkern.	21	%
Segmentk.	41	%
Lymphoc.	32	%
Monoc.	3	%
AMZ	2	%

BSG: 56/92, Elektrophorese: Albuminverminderung

Die Mitoseindices (Tab. A u. B) lagen sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulopoese nach Bestrahlung deutlich unter den Werten der Kontrollkulturen, z.T. trat eine Senkung bis zu 50 % auf. In der Erythropoese war lediglich im Fall 4 der 72 Std.-Wert nach Bestrahlung höher als der der Kontrollkultur. Mit Ausnahme des Falles 2 waren sämtliche 24 Std.-Werte der bestrahlten Kulturen am deutlichsten erniedrigt.

In der Granulopoese waren sämtliche Werte der bestrahlten Kulturen unter denen der Kontrollkulturen. Hier waren im Fall 1, 2 und 5 die 72 Std.-Werte am deutlichsten erniedrigt.

Da bei 70 000 differenzierten Zellen nur 146 rote und 140 weiße Mitosen registriert werden konnten, wurde nur 1 Darstellung (Abb. 1) und die Signifikanzberechnung von der Summe aller Fälle angefertigt. (Tab. C u. D) Insgesamt konnte man dabei in beiden Reihen den deutlichsten Rückgang des Mitoseindex nach Bestrahlung bei dem 24 Std.-Wert feststellen. Danach trat eine ganz geringe Erhöhung der Mitosetätigkeit ein, die etwa bis zur 72. Std. gleichblieb. Bis auf den 72 Std.-Wert in der roten Reihe waren sämtliche Mitoseindices nach der Bestrahlung signifikant erniedrigt, wobei die 24 Std.-Werte in beiden Reihen als hochsignifikant anzusehen waren.

Der Index der zweikernigen Zellen zeigte einen erheblichen Anstieg in der Erythropoese nach der Bestrahlung. Zu bemerken ist hierbei, daß gegenüber den Originalausstrichen in den unbestrahlten Kontrollkulturen ebenfalls eine, jedoch weit geringere Zunahme der zweikernigen Zellen zu verzeichnen war. Hauptsächlich lagen diese bei den reifen, seltener bei den oxyphilen und polychromatischen Erythroblasten vor. Der Index stieg nach der Bestrahlung z.T. über 2 % an, während er bei den Kontrollkulturen bei einigen Promille lag.

In der Granulopoese fanden sich auch nach der Bestrahlung nur vereinzelte zweikernige Zellen, hier nur auf Promyelocyten und Myelocyten beschränkt.

Bemerkenswerterweise lagen im Fall 2 schon vor der Bestrahlung gehäuft zweikernige Zellen in der roten Reihe vor; bei der Patientin war zum Zeitpunkt der Sternalpunktion bereits eine Strahlentherapie eingeleitet worden. (Tab. E u. F)

TABELLE A

Mitose-Indices der Erythropoese in % angegeben:

		Original- präparat	Kontrollen			400 rad		
			24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Fall	I	17,7	8,7	6,3	7,1	3,8	4,2	4,1
Fall	II	15,5	9,2	9,8	8,5	5,5	4,8	5,3
Fall	III	14,6	11,3	7,3	7,7	5,0	5,2	5,0
Fall	IV	12,1	12,7	16,1	9,5	5,4	8,6	10,6
Fall	V	11,2	8,6	7,1	8,4	5,1	6,7	5,3
Arithmeti- sches Mittel		14,2	10,1	9,3	8,2	4,9	5,9	6,1

TABELLE B

Mitose-Indices der Granulopoese in % angegeben:

		Original- präparat	Kontrollen			400 rad		
			24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Fall	I	8,0	8,9	6,6	6,9	4,4	4,3	3,3
Fall	II	10,6	8,4	6,9	7,3	5,4	5,0	4,2
Fall	III	14,1	9,4	7,8	7,1	4,0	5,1	5,8
Fall	IV	8,5	10,4	8,5	11,2	2,7	3,3	5,0
Fall	V	7,8	8,4	5,4	5,1	4,7	4,4	3,8
Arithmeti- sches Mittel		9,8	9,1	7,0	7,5	4,2	4,4	4,4

Mitoseindices der Erythro- und Granulopoese

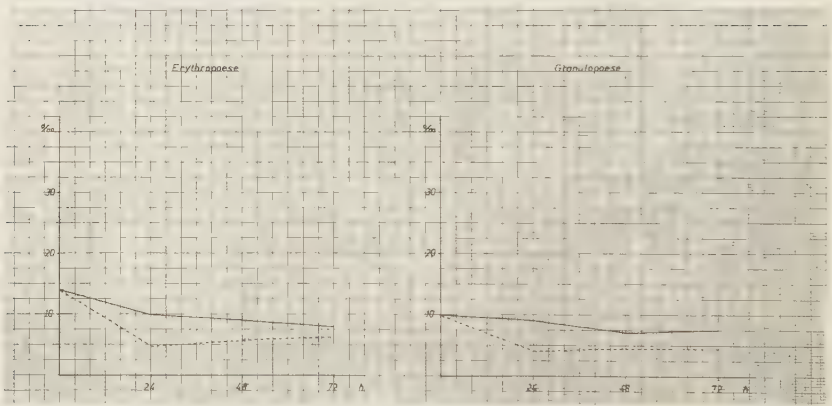


Abb. 1

———— = Kontrollkulturen

- - - - - = mit 400 rad schnellen Elektronen bestrahlte Kulturen

(Insgesamt lagen 146 rote und 140 weiße Mitosen den Berechnungen zugrunde.)

Die Signifikanzberechnung für die Mitoseindizes wurde als Paardifferenz der bestrahlten und unbestrahlten Kulturen mit dem t-Test nach Student durchgeführt. Dabei ist der Freiheitsgrad $\nu = n - 1$, n = Anzahl der Stichproben.

t wird errechnet aus der Formel: $t = \frac{x_{1,2}}{S_{1,2}} \sqrt{n-1}$

wobei sich $x_{1,2}$ ergibt aus $x_{1,2} = \frac{\sum x_1 - x_2}{n}$, x_1 sind die Werte der Kontrollkulturen und x_2 die der bestrahlten Kulturen.

$S_{1,2}$ ergibt sich aus $S_{1,2} = \frac{\sum [(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}]^2}{n-1}$

Die Ablesung der Werte erfolgte aus den wissenschaftlichen Tabellen "Documenta Geigy", Seite 32-35 ⁽¹⁰⁾ als zweiseitiger Test in der Spalte "2P" für eine Wahrscheinlichkeit von 1 - 0.

Eine Signifikanzschranke von 95 % wird für biologische Versuche als ausreichend angesehen, $\alpha = 0,05$.

TABELLE C

Erythropoese: Zusammenfassung der Mitose-Indices aller Patienten

24 Std.:	x_1	x_2	$x_1 - x_2$	$(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}$	$[(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}]^2$
Fall I	8,7	3,8	4,9	-0,2	0,04
Fall II	9,2	5,5	3,7	-1,4	1,96
Fall III	11,3	5,0	6,3	1,2	1,44
Fall IV	12,7	5,4	7,3	2,2	4,84
Fall V	8,6	5,1	3,5	-1,6	2,56
	$\Sigma 25,7$			$\Sigma 10,84$	

$$x_{1,2} = \frac{25,7}{5} = 5,1, \quad s_{1,2}^2 = \frac{10,84}{4}, \quad s_{1,2} = 1,65, \quad t = \frac{5,1}{1,65} \cdot \sqrt{4} = 6,2$$

$$\alpha < 0,005$$

=====

48 Std.:	x_1	x_2	$x_1 - x_2$	$(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}$	$[(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}]^2$
Fall I	6,3	4,2	2,1	-1,3	1,69
Fall II	9,8	4,8	5,0	1,6	2,56
Fall III	7,3	5,2	2,1	-1,3	1,69
Fall IV	16,1	8,6	7,5	4,1	16,81
Fall V	7,1	6,7	0,4	-3,0	9,00
	$\Sigma 17,1$			$\Sigma 31,75$	

$$x_{1,2} = \frac{17,1}{5} = 3,4, \quad s_{1,2}^2 = \frac{31,75}{4}, \quad s_{1,2} = 2,82, \quad t = \frac{3,4}{2,82} \cdot \sqrt{4} = 2,4$$

$$\alpha = 0,05$$

=====

72 Std.:	x_1	x_2	$x_1 - x_2$	$(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}$	$[(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}]^2$
Fall I	7,1	4,1	3,0	0,8	0,64
Fall II	8,5	5,3	3,2	1,0	1,00
Fall III	7,7	5,0	2,7	0,5	0,25
Fall IV	9,5	10,6	-1,1	-3,3	10,89
Fall V	8,4	5,3	3,1	0,9	0,81
	$\Sigma 10,9$			$\Sigma 13,59$	

$$x_{1,2} = \frac{10,9}{5} = 2,2, \quad s_{1,2}^2 = \frac{13,59}{4}, \quad s_{1,2} = 1,84, \quad t = \frac{2,2}{1,84} \cdot \sqrt{4} = 2,3$$

$$\alpha > 0,05$$

=====

TABELLE D

Granulopoese: Zusammenfassung der Mitose-Indices aller Patienten

24 Std.:	x_1	x_2	$x_1 - x_2$	$(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}$	$[(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}]^2$
Fall I	8,9	4,4	4,5	-0,4	0,16
Fall II	8,4	5,4	3,0	-1,9	3,61
Fall III	9,4	4,0	5,4	0,5	0,25
Fall IV	10,4	2,7	7,7	2,8	7,84
Fall V	8,4	4,7	3,7	-1,1	1,21

$\sum 24,3$

$\sum 13,30$

$$x_{1,2} = \frac{24,3}{5} = 4,9, \quad s_{1,2}^2 = \frac{13,30}{4}, \quad s_{1,2} = 1,82, \quad t = \frac{4,9}{1,82} \cdot \sqrt{4} = 2,4$$

$$\alpha < 0,01$$

=====

48 Std.:	x_1	x_2	$x_1 - x_2$	$(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}$	$[(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}]^2$
Fall I	6,6	4,3	2,3	-0,3	0,90
Fall II	6,9	5,0	1,9	-0,7	0,49
Fall III	7,8	5,1	2,7	0,1	0,01
Fall IV	8,5	3,3	5,2	2,6	6,76
Fall V	5,4	4,4	1,0	-1,6	2,56

$\sum 18,1$

$\sum 10,72$

$$x_{1,2} = \frac{18,1}{5} = 3,6, \quad s_{1,2}^2 = \frac{10,72}{4}, \quad s_{1,2} = 1,64, \quad t = \frac{3,6}{1,64} \cdot \sqrt{4} = 3,2$$

$$\alpha < 0,05$$

=====

72 Std.:	x_1	x_2	$x_1 - x_2$	$(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}$	$[(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - x_{1,2}]^2$
Fall I	6,9	3,3	3,6	0,5	0,25
Fall II	7,3	4,2	3,1	0,0	0,00
Fall III	7,1	5,8	1,3	-1,8	3,24
Fall IV	11,1	5,0	6,1	3,0	9,00
Fall V	5,1	3,8	1,3	-1,8	3,24

$\sum 15,4$

$\sum 15,73$

$$x_{1,2} = \frac{15,4}{5} = 3,1, \quad s_{1,2}^2 = \frac{15,73}{4}, \quad s_{1,2} = 1,97, \quad t = \frac{3,1}{1,97} \cdot \sqrt{4} = 3,2$$

$$\alpha < 0,05$$

=====

TABELLE E

Indices der zweikernigen Erythroblasten in % angegeben:

	Original- präparat	Kontrollen			400 rad		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Fall I	-	2,3	1,3	2,8	19,7	15,9	25,9
Fall II	11,7 ^x	4,0	6,0	3,6	21,0	21,6	24,6
Fall III	1,2	2,2	2,0	2,1	15,7	15,2	17,5
Fall IV	-	-	4,2	1,9	17,1	16,7	16,3
Fall V	-	-	3,3	1,5	13,1	20,0	16,4
Arithmeti- sches Mittel	2,6	1,7	3,6	2,6	17,3	17,9	20,1

TABELLE F

Indices der zweikernigen Granuloblasten in % angegeben:

	Original- präparat	Kontrollen			400 rad		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Fall I	-	-	-	0,9	1,5	1,6	2,6
Fall II	0,8 ^x	0,8	0,8	-	1,8	2,2	2,6
Fall III	-	-	1,3	1,2	3,4	4,3	3,1
Fall IV	-	-	-	-	2,6	3,2	1,3
Fall V	-	-	-	1,4	2,9	3,2	3,2
Arithmeti- sches Mittel	0,2	0,2	0,4	0,7	2,4	2,9	2,6

^x Vorher mit 3 x 400 rad schnellen Elektronen (20 MeV) bestrahlte Patientin.

Die Ergebnisse der Differentialzählung der roten und weißen Reihe sind in Tabelle G und H wiedergegeben. Die daraus angefertigten Reifungskurven (Abb. 2-6) lassen folgendes erkennen:

In der Erythro- und Granulopoese kommt es nach der Bestrahlung zu einem deutlichen, fast kontinuierlichen Absinken der unreifen Vorstufen (Proerythroblasten, basophile Erythroblasten und Promyelocyten). Eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Reifungshemmung ist in beiden Reihen ebenfalls nachweisbar und soll nachstehend ausführlicher beschrieben werden.

In der Erythropoese ist im Fall 1, 2 und 5 nach 24 Std. besonders deutlich die Ausreifung zum oxyphilen und reifen Erythroblasten zugunsten der polychromatischen Erythroblasten gestört. Im Fall 2 wird diese Reifungshemmung nach 48 Std. noch deutlicher. Im Fall 3 läßt sich erst nach 72 Std. eine nur mäßige Reifungsverzögerung nachweisen. Im Fall 4 ergeben sich keine Unterschiede zwischen bestrahlter und Kontrollkultur. (Abb. 2-6)

Eine Signifikanzberechnung wurde wegen der etwas uneinheitlichen Veränderungen nach Bestrahlung nur von den Summenwerten aller Patienten durchgeführt. Hier erwiesen sich die Veränderungen der bestrahlten Kulturen nach 24, 48 und 72 Std. als signifikant, insbesondere ergab sich infolge der Abnahme der reifen Erythroblasten nach 48 Std. ein hochsignifikanter Wert. (Tabelle I) (Abb. 7)

In der Granulopoese ist im Fall 1, 4 und 5 die Ausreifung zu den Segmentkernigen besonders gehemmt. Hier tritt dann eine entsprechende Vermehrung der Myelocyten auf. Im Fall 2 tritt nur eine geringe Reifungshemmung nach 48 und 72 Std. auf, im Fall 3 ist kaum ein unterschiedliches Verhalten zu den vergleichbaren Kontrollkulturen festzustellen. (Abb. 2-6)

Die Signifikanzberechnung der Summenwerte aller Patienten ergab einen hochsignifikanten 24 Std.-Wert, hauptsächlich aufgrund der Verminderung der Segmentkernigen und der Vermehrung der Myelocyten. Nach 48 Std. ist kein signifikanter Unterschied zu den Kontrollkulturen zu erheben. Der 72 Std.-Wert ist wiederum signifikant, auch hier durch erhebliche Abnahme der Segmentkernigen nach Bestrahlung. (Tabelle I) (Abb. 7)

TABELLE G

Ergebnisse der Differentialzählung aller Patienten in der Erythropoese.

Originalpräparate:					
	PE	bE	pE	oE	rE
Fall I	8	29	436	8	82
Fall II	28	62	149	40	82
Fall III	19	51	579	3	166
Fall IV	6	37	533	2	94
Fall V	39	130	451	7	136
Summe aller Patienten	100	309	2148	60	560

Kontrollkulturen: 24 Std.					
Fall I	9	20	624	45	163
Fall II	22	53	308	8	125
Fall III	14	35	728	18	104
Fall IV	5	23	707	24	147
Fall V	27	88	539	27	174
Summe aller Patienten	77	219	2906	122	713

Kontrollkulturen: 48 Std.					
Fall I	6	45	647	5	82
Fall II	29	25	174	20	249
Fall III	8	47	693	69	169
Fall IV	3	19	782	12	127
Fall V	11	40	429	0	121
Summe aller Patienten	57	176	2085	101	748

Kontrollkulturen: 72 Std.					
Fall I	3	28	563	0	104
Fall II	16	19	349	38	132
Fall III	10	73	652	35	156
Fall IV	0	24	914	3	109
Fall V	6	31	498	32	117
Summe aller Patienten	35	175	2976	108	618

Fortsetzung TABELLE G:

400 rad: 24 Std.

	PE	bE	pE	oE	rE
Fall I	3	18	946	21	129
Fall II	21	29	491	17	108
Fall III	16	45	896	44	148
Fall IV	2	21	862	19	141
Fall V	17	105	941	7	72
Summe aller Patienten	59	218	4136	108	598

400 rad: 48 Std.

Fall I	0	24	416	5	45
Fall II	9	22	421	12	45
Fall III	4	14	856	95	153
Fall IV	0	23	785	18	134
Fall V	3	37	615	5	38
Summe aller Patienten	16	120	3093	135	415

400 rad: 72 Std.

Fall I	3	19	540	5	141
Fall II	10	19	248	7	41
Fall III	5	13	938	35	154
Fall IV	1	15	214	9	101
Fall V	2	15	713	9	42
Summe aller Patienten	21	81	3353	65	479

TABELLE H

Ergebnisse der Differentialzählung aller Patienten in der Granulopoese.

Originalpräparate:

		Mb	P	My	eMy	Mo	J	St	Se	eSe	Mz
Fall	I	7	42	643	15	2	165	121	172	25	9
Fall	II	7	78	330	12	101	134	112	502	42	62
Fall	III	4	63	386	11	5	95	82	321	22	0
Fall	IV	2	49	547	7	0	103	149	209	6	13
Fall	V	3	56	585	12	5	105	167	79	19	38
Summe aller Patienten		23	288	2491	57	113	602	631	1283	114	122

Kontrollkulturen: 24 Std.

Fall	I	0	56	654	21	0	102	39	50	35	16
Fall	II	16	52	494	5	99	97	89	328	28	56
Fall	III	7	87	645	12	8	84	15	64	18	21
Fall	IV	2	38	609	5	0	63	98	81	7	12
Fall	V	5	47	616	8	3	106	85	76	15	11
Summe aller Patienten		30	280	3018	51	110	452	326	599	103	116

Kontrollkulturen: 48 Std.

Fall	I	5	43	764	24	0	94	18	11	4	7
Fall	II	9	78	481	0	47	88	104	363	47	40
Fall	III	6	35	476	10	5	102	41	62	17	20
Fall	IV	0	35	643	2	0	55	73	60	5	6
Fall	V	2	42	724	16	4	117	141	108	10	22
Summe aller Patienten		22	233	3088	52	56	456	377	604	83	95

Kontrollkulturen: 72 Std.

Fall	I	5	36	619	11	0	121	118	145	18	0
Fall	II	7	66	457	4	55	124	39	455	27	34
Fall	III	4	59	552	15	7	61	49	55	38	25
Fall	IV	0	29	611	0	0	44	48	37	3	0
Fall	V	0	39	695	18	3	114	125	72	14	16
Summe aller Patienten		16	229	2934	48	65	464	379	764	100	75

Fortsetzung TABELLE H:

400 rad: 24 Std.

	Mb	P	My	eMy	Mo	J	St	Se	eSe	Mz
Fall I	2	33	567	10	0	29	5	13	0	0
Fall II	14	23	548	5	48	111	79	246	17	56
Fall III	7	71	365	19	7	28	17	30	27	9
Fall IV	0	35	653	9	0	36	27	18	2	0
Fall V	0	27	594	14	1	45	54	32	0	4
Summe aller Patienten	23	189	2727	57	56	249	182	339	46	69

400 rad: 48 Std.

	Mb	P	My	eMy	Mo	J	St	Se	eSe	Mz
Fall I	3	32	757	31	0	92	136	151	45	13
Fall II	11	35	681	3	48	138	145	232	15	34
Fall III	3	52	432	23	2	69	28	41	27	15
Fall IV	0	63	651	10	2	75	58	55	16	22
Fall V	0	37	761	18	0	121	104	54	9	14
Summe aller Patienten	17	219	3282	85	52	495	471	533	112	98

400 rad: 72 Std.

	Mb	P	My	eMy	Mo	J	St	Se	eSe	Mz
Fall I	0	34	617	33	0	101	119	191	59	6
Fall II	9	30	782	5	53	112	196	213	11	98
Fall III	3	61	396	19	3	39	17	44	45	11
Fall IV	0	33	621	5	3	57	20	25	11	0
Fall V	0	21	758	33	0	110	96	48	18	13
Summe aller Patienten	12	179	3174	95	59	419	448	521	144	128

Reifungskurven der Erythro- und Granulopoese: Fall I

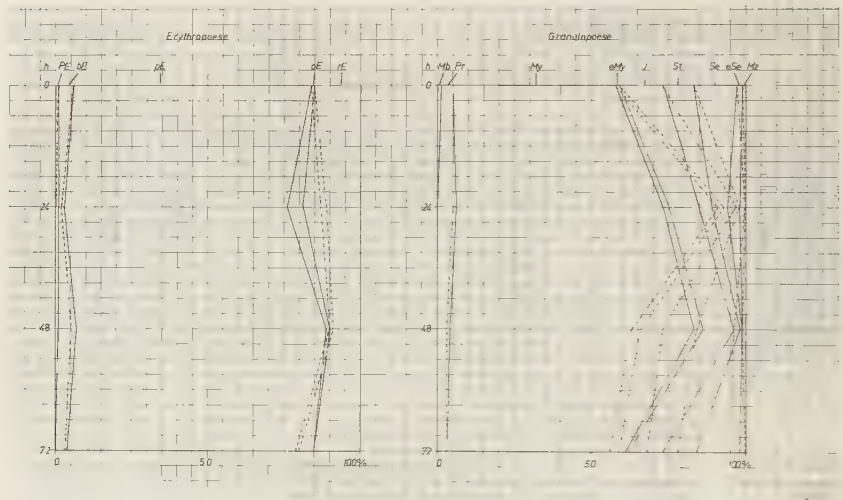


Abb. 2

Reifungskurven der Erythro- und Granulopoese: Fall II

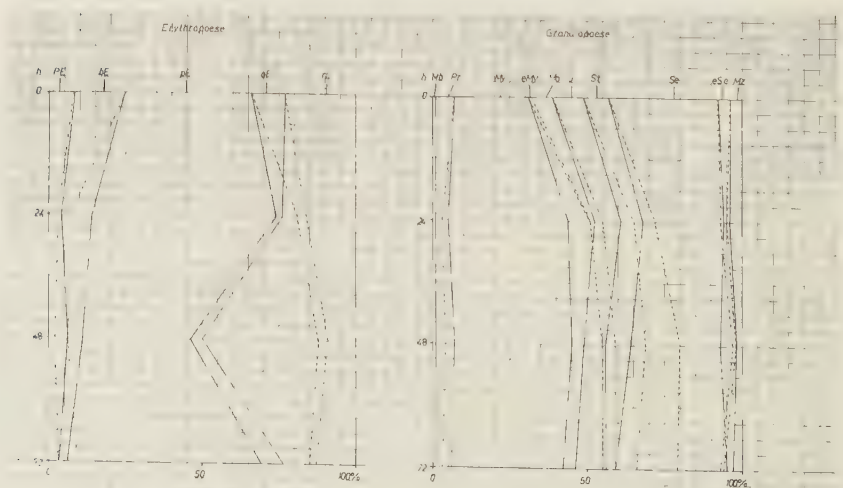


Abb. 3

Reifungskurven der Erythro- und Granulopoese: Fall III

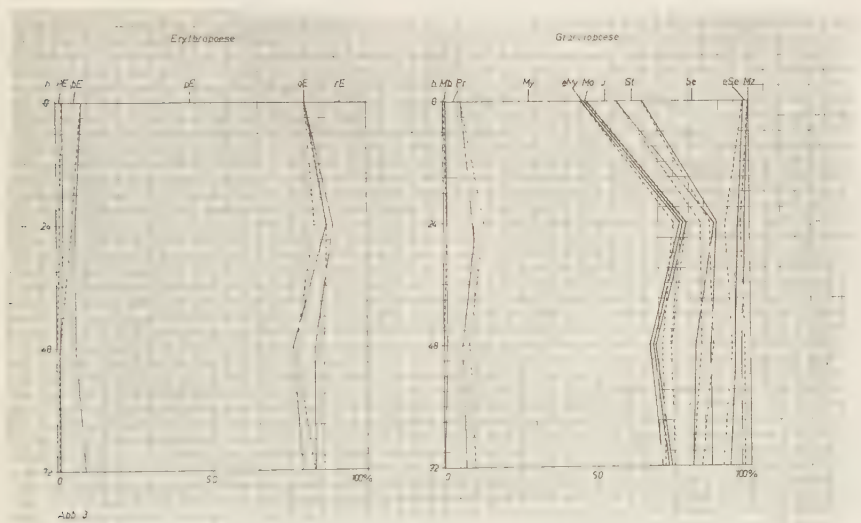


Abb. 4

Reifungskurven der Erythro- und Granulopoese: Fall IV

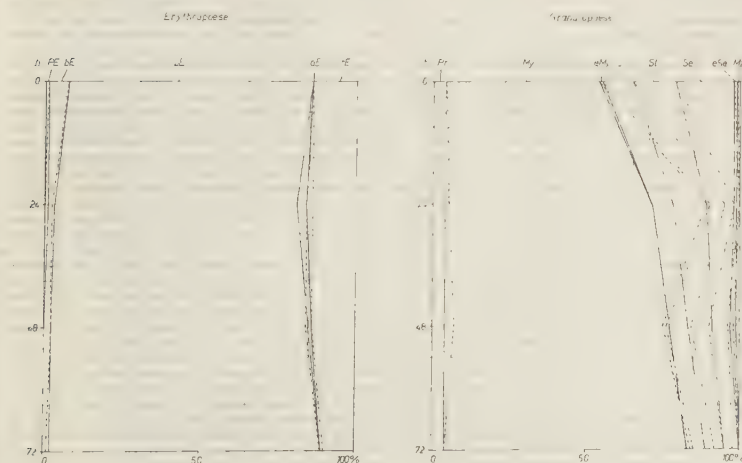


Abb. 5

Reifungskurven der Erythro- und Granulopoese: Fall V

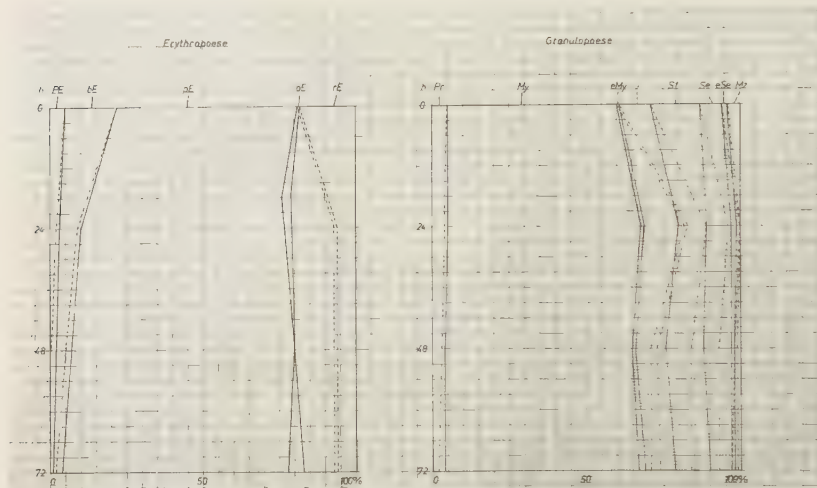


Abb. 6

Summenreifungskurven aller Patienten der Erythro- und Granulopoese



Abb. 7

Die Signifikanzberechnung für die Werte der Reifungskurven wurde mit dem χ^2 /Test nach HELMERT PEARSON durchgeführt. Für die Erythropoese mit 5 differenzierten Formen der einzelnen Zellen ist die Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % bei $\chi^2 = 15,08$, bei 0,1 % bei $\chi^2 = 20,5$ gegeben. Für die Granulopoese mit 10 differenzierten Zellformen ist die Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % bei $\chi^2 = 23$, bei 0,1 % bei $\chi^2 = 29,6$ gegeben.

Die Errechnung erfolgte nach folgenden Formeln:

$m = \frac{a + b}{2}$, a stellt die Zellzahl der bestrahlten Kulturen dar, b die Zellzahl der Kontrollkulturen. Bei zu großen Differenzen in den Summen von a und b wurde der Faktor $a/a+b$ bestimmt, mit dem dann die Summe der einzelnen Zellformen multipliziert wurde. Dieser Faktor steht in der Tabelle unter Spalte m in Klammern. Die Signifikanz ergibt sich aus Δ^2/m , Δ ergibt sich aus $\Delta = a - m$.

In den folgenden Berechnungen und graphischen Darstellungen sind nachstehend aufgeführte Abkürzungen der einzelnen Zellarten benutzt worden:

Proerythroblasten	= PE	Myeloblasten	= Mb
basophile Erythroblasten	= bE	Promyelocyten	= Pr
polychrom. Erythroblasten	= pE	Myelocyten	= My
oxyphile Erythroblasten	= oE	eos. Myelocyten	= eMy
reife Erythroblasten	= rE	Monoblasten	= Mo
		Jugendliche	= J
		Stabkernige	= St
		Segmentkernige	= Se
		eos. Segmentkernige	= eSe
		Monocyten	= Mz

———— = Kontrollkulturen, - - - - = bestrahlte Kulturen

TABELLE I

Erythropoese: Zusammenfassung aller Patienten

	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
				(0,56)		
24 Std.:	PE	59	77	76	17	3,8
	bE	218	219	219	1	0,01
	pE	4136	2906	3944	192	9,4
	oE	108	122	115	7	0,42
	rE	598	713	656	58	5,1
					$\chi^2 =$	18,73
				(0,54)		
48 Std.:	PE	16	57	40	24	14,4
	bE	120	176	160	40	10,0
	pE	3093	2085	2796	297	31,6
	oE	135	101	127	8	5,0
	rE	415	748	628	213	72,2
					$\chi^2 =$	153,2
				(0,51)		
72 Std.:	PE	21	35	29	8	2,2
	bE	81	175	131	50	19,1
	pE	3353	2976	3228	125	4,8
	oE	65	108	88	23	6,0
	rE	479	618	559	80	11,5
					$\chi^2 =$	43,6

Granulopoese: Zusammenfassung aller Patienten

	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
				(0,44)		
24 Std.:	Mb	23	30	24	1	0,04
	Pr	189	280	206	17	1,4
	My	2727	3018	2528	199	15,6
	eMy	57	51	54	3	0,16
	Mo	56	110	73	17	3,9
	J	249	452	308	59	11,3
	St	182	326	224	42	7,8
	Se	339	599	413	74	13,3
	eSe	46	103	66	20	6,1
	Mz	69	116	81	12	1,8
					$\chi^2 =$	61,40
				(0,51)		
48 Std.:	Mb	17	22	20	3	0,45
	Pr	219	233	226	7	0,22
	My	3282	3088	3185	97	2,9
	eMy	85	52	70	15	3,2
	Mo	52	56	54	2	0,08
	J	495	456	476	19	0,75
	St	471	377	432	39	3,5
	Se	533	604	580	47	3,7
	eSe	112	83	99	13	1,7
	Mz	98	95	97	1	0,01
					$\chi^2 =$	17,51
				(0,51)		
72 Std.:	Mb	12	16	14	2	2,8
	Pr	179	229	208	29	4,0
	My	3174	2934	3054	120	4,7
	eMy	95	48	73	22	6,6
	Mo	59	65	62	3	0,15
	J	419	464	450	31	2,1
	St	448	379	422	26	1,6
	Se	521	764	655	134	27,4
	eSe	144	100	124	20	2,2
	Mz	128	75	104	24	5,5
					$\chi^2 =$	57,05

Karyologische Kurven:

Bei der Betrachtung der Veränderungen des Verhältnisses der einzelnen Mitosephasen zueinander nach Bestrahlung schien es uns wegen der relativ geringen Anzahl von Mitosen nicht zweckmäßig, von den einzelnen Patienten karyologische Kurven anzufertigen. Es wurden daher nur Summenkurven der Erythro- und Granulopoese über insgesamt 146 rote und 140 weiße Mitosen aufgestellt. (Abb. 8) Diese lassen eine auffallende Abnahme der Prophasen nach Bestrahlung in beiden Reihen erkennen.

In der Erythropoese findet sich eine Zunahme der frühen und späten Metaphasen zu Ungunsten der späteren Phasen.

In der Granulopoese zeigt sich lediglich eine geringe Zunahme der späten Metaphasen.

Die späten Phasen sind sowohl in den bestrahlten- als auch in den Kontrollkulturen auffallend gering vertreten.

Die G/E-Indices entsprachen in den Originalausstrichen den zugehörigen Erkrankungen. Im Fall 1, 3, 4 und 5 lagen jeweils Anämien verschiedener Genese vor, so daß die G/E-Indices entsprechend der Reaktion des Knochenmarkes erniedrigt waren. (Verschiebung zur roten Reihe hin). In den Kontrollkulturen lagen sie etwas unter den Werten der Originalausstriche. Nach der Bestrahlung zeigte sich in den 24 Std.-Werten ein erhebliches Absinken der G/E-Indices, danach stiegen die Werte der 48 und 72 Std.-Kulturen wieder deutlich an, in den Fällen 1 und 2 lagen sie dann über dem Wert der entsprechenden Kontrollkulturen. (Tabelle K)

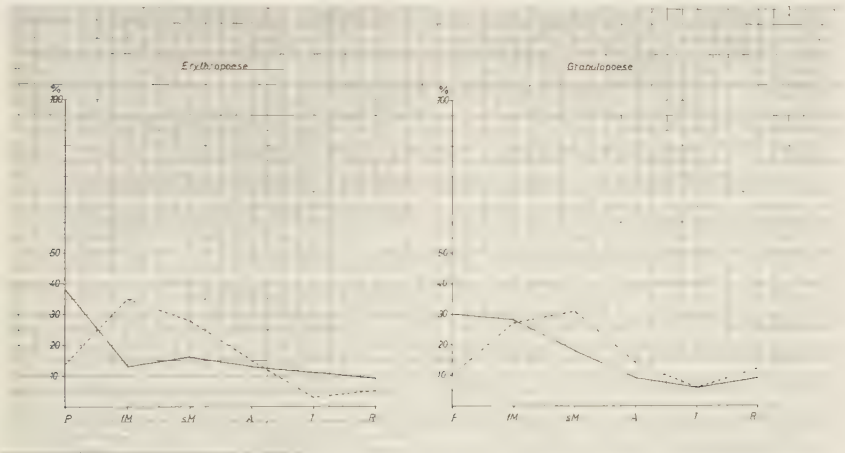
Mit zunehmender Kulturzeit fanden sich nach der Bestrahlung eine erhebliche Anzahl nicht zu differenzierender Zellen, z.T. durch Fehlfärbungen, z.T. durch allgemeine Zellveränderungen bedingt. Diese wurden bei der Differenzierung nicht berücksichtigt. In der weißen Reihe waren hauptsächlich Kernanomalien und Vakuolenbildungen im Kern und Plasma zu beobachten. In der roten Reihe lagen gehäuft Kernpyknose und Karyorhexis vor, neben den schon erwähnten zweikernigen kamen gelegentlich auch mehrkernige Erythroblasten vor, die nicht in den Berechnungen des Index der zweikernigen Zellen Eingang fanden.

TABELLE K

G/E-Indices

		Original- präparat	Kontrollen			400 rad		
			24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Fall	I	2,2	1,1	1,2	1,5	0,6	2,6	1,6
Fall	II	3,8	2,5	2,5	2,3	1,7	2,6	4,7
Fall	III	1,2	1,1	0,8	0,9	0,5	0,6	0,6
Fall	IV	1,6	1,0	0,9	0,7	0,7	1,0	0,7
Fall	V	1,4	1,1	2,0	1,6	0,7	1,6	1,4
Arithmeti- sches Mittel		2,0	1,4	1,5	1,4	0,8	1,7	1,8

Karyologische Kurven der Erythro- und Granulopoese der Summen aller Patienten



ADD. 0

————— = Kontrollkulturen

- - - - - = mit 400 rad schnellen Elektronen bestrahlte Kulturen

(Insgesamt lagen 146 rote und 140 weiße Mitosen der Auswertung zugrunde.)

ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE:

1. Die Mitoseindices der bestrahlten Knochenmarkkulturen waren in der Erythro- und Granulopoese bis zur 72. Std., mit Ausnahme des 72 Std.-Wertes der roten Reihe, signifikant erniedrigt. Am deutlichsten war der Rückgang der Mitosetätigkeit nach 24 Std.
2. Der Index der zweikernigen Zellen zeigte in der Erythropoese ein erhebliches Ansteigen nach Bestrahlung um ca. das 10-fache hauptsächlich lagen zweikernige, reife Erythroblasten vor, seltener zweikernige, polychromatische und oxyphile Erythroblasten. Die Granulopoese zeigte wie bekannt weniger zweikernige Zellen, die bei den Pro- und Myelocyten aber auch nach der Bestrahlung um eine Zehnerpotenz vermehrt sind.
3. Die Reifungskurven ließen ein signifik. Absinken der basophilen erythroblastischen Vorstufen zugunsten der polychromatischen Erythroblasten nach Bestrahlung erkennen. Trotzdem lag eine Reifungshemmung in der Erythropoese nach 48 Std. am ausgeprägtesten vor, wenn man die Verminderung der reifen Erythroblasten und die Erhöhung des G/E-Index betrachtet. In der Granulopoese war die Reifungshemmung nach 24 und 72 Std. am stärksten. Diese Veränderungen waren hochsignifikant.
4. Die karyologischen Kurven der Erythro- und Granulopoese ließen eine auffallende Abnahme der Prophasen durch die Bestrahlung erkennen. In der Erythropoese fanden sich vermehrt frühe und späte Metaphasen, in der Granulopoese lag lediglich eine leichte Zunahme der späten Metaphasen vor. Späte Phasen waren in den bestrahlten- und Kontrollkulturen auffallend wenig vorhanden, so daß die Kurve der bestrahlten Mitosen mehr den Normalkurven von Boll gleicht.
5. Die G/E-Indices waren in den 24 Std.-Werten nach Bestrahlung erheblich abgesunken, danach erfolgte ein Wiederanstieg, z.T. auf Werte, die über dem Ausgangswert lagen.
6. Nach der Bestrahlung trat eine Häufung undifferenzierbarer Zellen auf.

DISKUSSION

Der Einfluß von Röntgenstrahlen auf menschliche Knochenmarkkulturen ist von ROLL, KOPPE, SCHAAF und TRAUTMANN ⁽⁹⁾ 1956 beschrieben worden. Hier sollen nun vergleichsweise die Proliferationsänderungen von menschlichen Knochenmarkkulturen nach Applikation von 400 rad (35 MeV) schnellen Elektronen erarbeitet werden. Gleichzeitig soll noch der Unterschied zu einer Bestrahlung mit 400 rad (33 MeV) ultraharter Bremsstrahlung aufgezeigt werden. Hierzu wurden die Ergebnisse der Dissertation von HEINZE ⁽¹⁴⁾ hinzugezogen.

Der Mitoseindex wird an menschlichen Knochenmarkkulturen nach Bestrahlung mit schnellen Elektronen (400 rad, 35 MeV) maximal bis zu 50 % gegenüber den Kontrollkulturen gesenkt. Ähnlich verhielten sich Knochenmarkkulturen die Boll, Koppe, Schaaf und Trautmann mit 100 - 1000 R (200 kV, 1 mm Cu Filter, 1,45 mm Cu HWS, 45 cm FHA) bestrahlten in den mittleren Dosisbereichen. Heinze dagegen beobachtete nach 400 rad (33 MeV) Photonen eine stärkere Senkung des Mitoseindex, in der Erythropoese sogar ein völliges Verschwinden der Mitosen. Hier liegt eine gewisse Übereinstimmung mit Ergebnissen an anderen Geweben vor, wie bei GARTNER ⁽¹²⁾, die Hühnerherzfibroblastenkulturen mit 250 R Röntgenstrahlen (180 kV) und schnellen Elektronen (15 MeV) bestrahlte und eine 50 % geringere Senkung des Mitoseindex nach Bestrahlung fand. MARKUS ⁽²⁰⁾ fand eine gleiche Erniedrigung des Mitoseindex, wenn er im Verhältnis 350 R schnelle Elektronen (14,2 MeV) zu 260 R Röntgenstrahlen (200 kV) Wurzelspitzen von *Allium cepa* bestrahlte.

Bei den karyologischen Kurven fanden wir in Übereinstimmung mit Boll, Koppe, Schaaf und Trautmann nach der Bestrahlung eine deutliche Abnahme der Prophasen. Im Unterschied dazu lagen bei uns nach der Bestrahlung kaum Endphasen vor, während Boll et al. vermehrt späte Phasen beobachteten. Heinze fand nach Bestrahlung mit Photonen keine Hemmung einer speziellen Mitosephase. Wir können also zusammen mit Heinze keine sichere Verzögerung des Mitoseablaufes aus den karyologischen Kurven entnehmen. Die Mitosehäufigkeit dürfte also entsprechend der Verringerung des Mitoseindex herabgesetzt sein, bei unserer Versuchsanordnung nach 24 Std. auf die Hälfte.

Das bisher noch nicht quantitativ beschriebene, vermehrte Vorkommen von zweikernigen Zellen nach Bestrahlung wird hier in Form des Index der zweikernigen Zellen ausgewertet. Ähnlich wie bei KOPPE ⁽¹⁸⁾ sahen wir nach Bestrahlung mit 400 rad schnellen Elektronen hauptsächlich zweikernige Zellen in der Erythropoese und dort am häufigsten bei den reifen Erythroblasten. Während bei den unbestrahlten Kontrollkulturen im Durchschnitt 2,3 % zweikernige Zellen vorkamen, war der Mittelwert nach Bestrahlung bei 18,8 %. In der weißen Reihe wurden die nur ganz geringfügig vorkommenden zweikernigen Zellen auch um ca. das 10-fache nach Bestrahlung vermehrt. Ähnliches beobachtete auch INGRAM ⁽¹⁶⁾ am peripheren weißen Blutbild bei Reaktorarbeitern.

In den Reifungskurven lag nach Bestrahlung mit 400 rad schnellen Elektronen in der Erythropoese besonders nach 48 Std. in der Summenkurve aller Fälle eine erhebliche Hemmung der Reifung vor, ebenso verhielt sich die Granulopoese, aber vorwiegend bei den 24 und 72 Std.-Werten. Vergleichsweise kam es bei der Bestrahlung mit 400 rad Photonen in der Erythropoese zu einer Reifungsbeschleunigung nach 48 Std. und in der Granulopoese lediglich erst nach 72 Std. zu einer Reifungshemmung. (Heinze). Die Verminderung der Regeneration durch 400 rad schnelle Elektronen stört offensichtlich auch die Ausreifung in beiden Reihen. Nach unseren Untersuchungen ist also zu vermuten, daß ein unterschiedlicher Effekt der Elektronenbestrahlung zu den Röntgenstrahlen am menschlichen Knochenmark besteht, der nur bei ersterer die Ausreifung behindert. In Einklang zu bringen wäre dieser Befund mit dem von Gärtner beschriebenen ausgeprägten nekrobiotischen Effekt der schnellen Elektronen gegenüber den Röntgenstrahlen.

Während Heinze nach Bestrahlung mit ultraharter Bremsstrahlung keine einheitliche Veränderung des G/E-Index fand, zeigte sich bei der Elektronenbestrahlung ein erhebliches Absinken des G/E-Index nach 24 Std., was als Zeichen einer stärkeren Strahlensensibilität der Granulopoese oder als eine stärker in Erscheinung tretende Ausreifungsbehinderung der Erythropoese gewertet werden kann. Der spätere Wiederanstieg des G/E-Index läßt an eine doch noch verspätet eintretende Ausreifung der Erythropoese denken.

ZUSAMMENFASSUNG

Menschliches Knochenmark wurde mit 400 rad (35 MeV) schnellen Elektronen in vitro bestrahlt und nach Anlage von Kulturen bis zu 72 Std. im Vergleich mit unbestrahlten Kulturen ausgezählt. In Abständen von 1 Tag wurde der Mitoseindex, der Index der zweikernigen Zellen und der G/E-Index aus den Differentialzählungen der Kulturausstriche ermittelt und Reifungskurven und karyologische Kurven angefertigt.

Die Auswertung der Ergebnisse zeigt eine signifikante Verminderung des Mitoseindex nach Elektronenbestrahlung, etwa entsprechend der mit konventioneller Röntgenbestrahlung, die jedoch im Vergleich mit ultraharter Bremsstrahlung weniger ausgeprägt ist. Im Zusammenhang mit den nicht deutlich veränderten karyologischen Kurven dürfte die Mitosehäufigkeit entsprechend dem Mitoseindex in der Erythro- und Granulopoese auf die Hälfte reduziert sein. Bei schnellen Elektronen kommt außerdem eine bei Röntgenstrahlen nicht vorhandene Reifungshemmung auch nach dem G/E-Index zum Ausdruck, und es sind vermehrt nekrobiotische Zellveränderungen zu erkennen. Zweikernige Zellen sind nach Bestrahlung hauptsächlich in der Erythropoese um das 10-fache vermehrt.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ALBRECHT, M und I. BOLL

Untersuchungen über Einwirkungen von Colchicin, arseniger Säure, Stickstofflost und Methylurethan auf menschliches Knochenmark in vitro.

Ärztl. Wschr. 5, 485 (1950)

2. ASTALDI, G., C. MAURI und L. DI GUGLIELMO

L'effetto dei raggi roentgen sul' attività proliferativa degli eritroblasti studiato sul midollo osseo umano in cultura.

Haematol. 34, 529 (1950)

3. BAUER, R.

Untersuchungen über die Einwirkung unterschiedlich verabfolgter Röntgenstrahlen auf das Knochenmark und seine Zellelemente, zugleich ein Beitrag zum Zeitfaktorproblem.

Strahlentherapie 67, 424 (1940)

4. BOLL, I.

Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.

Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1966)

5. BOLL, I.

Morphologische Studien zum Verhalten von Knochenmarkszellen in vitro, Granuloblastenmitosen.

Fol. haemat., N.F., 3, 1 (1958)

6. BOLL, I.

Weitere Untersuchungen über die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Knochenmarkszellen in vitro.

Haemat. Lat. 1, 171 (1958)

7. BOLL, I. und G. FUCHS

Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro.

Blut VII, 257 (1961)

8. BOLL, I. und G. FUCHS
Unterschiedliche Strahlenwirkung auf die Erythro- und Leukopoese in vitro.
Verhandlungen des 8. Kongresses der Europ. Ges. für Haematologie, Wien (1961)
9. BOLL, I., M. KOPPE, J. SCHAAF und J. TRAUTMANN
Quantitative und qualitative Veränderungen an röntgenbestrahlten Knochenmarkkulturen.
Strahlentherapie 100, 3, 445 (1956)
10. DOCUMENTA Geigy
Wissenschaftliche Tabellen
6. Auflage (1960)
11. FLIEDNER, T.M. und R. STODTMEISTER
Experimentelle und klinische Strahlenhaematologie
J.F. Lehmanns Verlag, München (1962)
12. GÄRTNER, H.
Betatron und Kobalttherapie
Springer Verlag Berlin (1958)
13. GREGORI, A.
Wirkung von Röntgenstrahlen auf das Knochenmark in vivo und in vitro.
Strahlentherapie 65, 163 (1939)
14. HEINZE, D.
Über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Proliferation des Knochenmarkes in vitro. (400 rad (33 MeV) Photonen)
Inauguraldissertation, Berlin (1970)
(In Vorbereitung)
15. HERTWIG, P.
Durch Radiumbestrahlung verursachte Entwicklung von halbkernigen Triton- und Fischembryonen.
Arch. mikrosk. Anat., Band 87, (1911)
16. INGRAM, M.
The occurrence of lymphocytes with bilobed nuclei in cyclotron personell.
Science 116, 706-708, 26 (1952)
17. JUUL, J. und T. KEMP
Über den Einfluß von Radium und Röntgenstrahlen, ultravioletttem Licht und Hitze auf die Zellteilung bei warmblütigen Tieren. Studium an Gewebekulturen.
Strahlentherapie 48, 457 (1933)

18. KOPPE, M.

Die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf menschliches Knochenmark in vitro.

Inauguraldissertation, Berlin (1955)

19. MACHEMER, R., R. SCHUSTER, P. SUCHTING und H. BÜTTNER

Das Verhalten von DNS-Synthese und Mitosetätigkeit nach Betastrahlen auf das Cornealepithel.

Strahlentherapie 136, 3 (1968)

20. MARKUS, B.

Einige neuere strahlenbiologische Experimente mit schnellen Elektronen.

Deutscher Röntgenkongreß, Teil B
Strahlenbehandlung und Strahlenbiologie
Urban und Schwarzenberg, München (1967)

21. OSGOOD, E.E.

Effects of irradiation on leucemic cells in marrow cultures.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 45, 131-5 (1945)

22. PERTHES, G.

Versuche über den Einfluß von Röntgenstrahlen und der Radiumstrahlen auf die Zellteilung.

Dt. med. Wschr., Band 30, (1904)

23. POLITZER, G.

Pathologie der Mitose.

Verlag Gebr. Borntraeger, Berlin (1934)

24. POLITZER, G.

Über den gegenwärtigen Stand der Frage des Einflusses der Röntgenstrahlen auf die Zellteilung in Geweben.

Wien. Klin. Wschr., 63, 699 (1951)

25. RACHMILEWITZ, M., A. ROSIN, G. GOLDBERGER und L. DOJANSKI
The effect of x-rays on the mitotic activity of explanted
bone marrow.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 59, 129-131 (1945)

26. SCHERER, E. und H.S. STEPHAN
Strahlenpathologie der Zelle.

Thieme Verlag, Stuttgart (1963)

27. ZAK, M.

Zur Frage der mitotischen Veränderungen im Knochenmark
nach Einzeit-Röntgenbestrahlung.

Strahlentherapie 154, 1 (1967)

Für die Beratung bei der Dosimetrie und Bestrahlungstechnik
sind wir Herrn Dipl. Physiker Dr. Ing. H.-D. Leßmann zu Dank
verpflichtet.

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF,
Nr. 031-64-1 BIAD.

Lebenslauf

Ich, Jürgen Hans Friedhelm Ciarkowski, wurde am 20.3.1936 als Sohn des Apothekers Paul Ciarkowski und seiner Ehefrau Margarete in Berlin geboren.

Von 1942 bis 1946 besuchte ich die Volksschule, im Anschluß daran die Oberschule, naturwissenschaftlichen Zweiges. Im März 1955 legte ich die Reifeprüfung in Berlin ab. Von 1955 bis 1957 war ich als Apothekerpraktikant tätig und legte dann die pharmazeutische Vorprüfung in Berlin ab. Von 1957 bis 1965 studierte ich an der mathematisch-naturwissenschaftlichen und medizinischen Fakultät der FU Berlin. Im Jahre 1960 legte ich die pharmazeutische Prüfung und im Jahre 1961 die ärztliche Vorprüfung ab. Ende 1961 erhielt ich die Bestallung als Apotheker in Berlin. 1965 folgte die ärztliche Prüfung und nach zweijähriger Medizinalassistentenzeit, die ich ebenfalls ausschließlich in Berlin absolvierte, erhielt ich im Jahre 1967 die Bestallung als Arzt. Seit dieser Zeit befinde ich mich in der Facharztausbildung für Radiologie.

